

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月 15日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009 ～ 2011

課題番号：21550129

研究課題名（和文）

ペプチドミメティックなC₃対称性キラルボウルからの分子コンテナの構築と機能化

研究課題名（英文）

Construction and functionalization of molecular containers composed of peptidomimetic chiral bowls having C₃-symmetry

研究代表者

赤染 元浩（AKAZOME MOTOHIRO）

千葉大学・大学院工学研究科・准教授

研究者番号：10261934

研究成果の概要（和文）：

我々は、アミノ酸から合成できるペプチド模倣の環状ペプチドが作り出すボウル型構造、特に C₃-対称性を有するキラルなボウル型構造の合成と構造解明を行った。またボウル型化合物のゲスト会合能を調べた。このボウル型構造のリム部分を修飾し、互いに会合することで分子コンテナの形成の可能性を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

We synthesized bowl-shaped cyclic peptidomimetics from amino acids and elucidated their conformation. These cyclic peptides as new host compounds were examined their guest binding ability. After introduction of aggregable functional group on the rim of the bowl-shaped cyclic peptide, the aggregation of the bowls was observed by NMR spectra with varying concentration of the bowl.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・機能物質化学

キーワード：超分子化学，ホスト-ゲスト化学，ボウル型化合物

1. 研究開始当初の背景

これまでに研究された C₃ 対称のキラル化合物の多くは三座配位子に代表されるトライポッド（三脚）型の化合物である。一方、ボウル型化合物は内部に疎水性の空孔が形成できるが、キラルなボウル型化合物の報告例は少ない。例えば、アキラルなシクロトリペラトリレンやスマネンのボウル分子に対してリム部分の置換基を非対称にする方

法でトポロジカルに C₃ 対称のキラリティーを作り出す興味深い例も報告されている（Collet ら, *J. C. S. Perkin I*, **1981**, 1630. や桜井ら, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8592.）。

一方、入手容易な天然アミノ酸を用いた環状ペプチドのキラルな C₃ 対称のボウル型分子は Still (*J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 1305.), Haberhauer (*Tetrahedron Lett.* **2002**, 43,

6335.) や Kubik (*J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 5846.) らが報告しているが報告例は多くない。このように基本となる多様な C_3 対称ボウル型構造の登場が期待される中で、本研究にあるボウル型化合物は、新たに分子内水素結合をもつフォルダマーの特徴を備えており、ボウル構造のプラットフォームとして大いに活用が期待できる。

一方、分子カプセルの構築については、超分子化学の黎明期には共有結合のカルセランドが研究された。現在では短行程で巨大な内部空孔が構築できる点やゲスト分子の包接・放出が可能となる点で、非共有結合の自己集合により分子カプセルを構築する例が数多くある。特に、藤田らはピリジン誘導体のパネル状配位子を金属へ配位させ、巨大な分子カプセルを構築した (*Acc. Chem. Res.* **2005**, *38*, 371)。また、ボウル状分子をモジュールとして縁を合わせた会合から分子カプセルをつくる報告は、入手容易なカリックス[4]アレーン類を中心に数多くある。特に国外では Rebek (*Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1647) や国内では小林 (*J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 10615) や灰野 (*Chem. Commun.*, **2005**, 2321) らの優れた研究例がある。

一方、アミノ酸からなるボウル型ペプチドは人工酵素などの生体模倣のモジュールとして応用が期待される。 C_3 対称性のボウル型ペプチドは Still (米: *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 1305) や Kubik (独: *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 5846) らが報告しているが、報告例は少ない。これはペプチドの固相合成や多段階合成が必要となることに原因がある。環状ペプチドをモジュールとした分子カプセルの構築は皆無であり、ボウル型ペプチドの簡便な合成法や自己集合によるカプセル化の研究は未開拓である。

2. 研究の目的

本研究は、ペプチドを模倣した C_3 対称のキラルなボウル型化合物を合成し、そのボウル型分子の特性を解明する。ホスト-ゲスト化学に新たなボウル型化合物のプラットフォームを提供する。さらにキラルボウルを用いて分子コンテナ群へと展開し、ドラッグデリバリーシステム (DDS) や分子フラスコなどの機能性物質群を構築することを目的とする。

本研究に用いるボウル型化合物は、アントラニル酸とアミノ酸の交互環状体やアミノフェノキシ酢酸の環状三量体である。これらの環状ペプチドは、アミノ酸から容易に合成可能である。アミノ酸の側鎖が利用できることは、DDSをはじめとして生化学的に利用

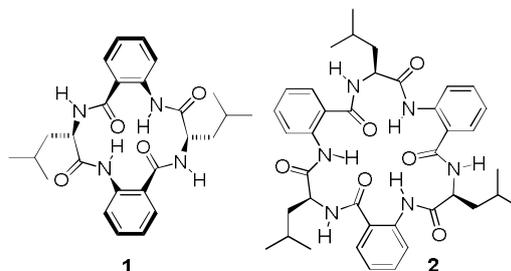
する場合に有利である。

また、このボウル型分子の特徴は、(1)水素結合のフォールディングにより配座が固定されており、フォルダマーと見ることもできる。(2)アミノ酸由来の側鎖の立体効果によりボウルの反転 (フリップ) が阻害され、優先的にボウル型配座をとる。また側鎖は底部のリムに位置しており、例えば、溶解度改善やカルボキシル基を有する側鎖 (アスパラギン酸から) では、カチオン性ゲストを補足するアームへと利用可能である。(3)アミノ酸のキラリティー由来の光学活性化合物であり、 C_3 対称形の空孔を利用した不斉認識への応用が期待できる。

3. 研究の方法

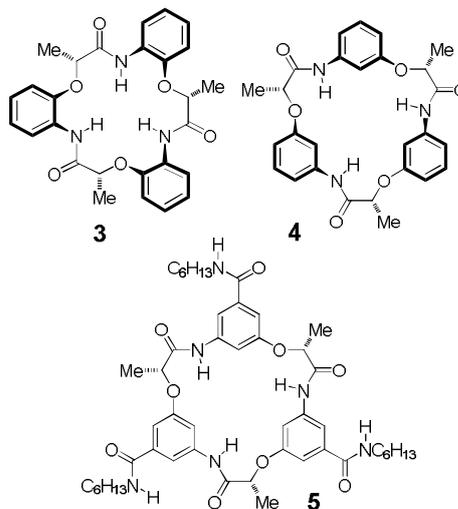
(1) アントラニル酸と α -アミノ酸からなるボウル型構造

下図に示す β -アミノ酸のアントラニル酸と α -アミノ酸を交互に結合した環状トリペプチド(1)および環状ヘキサペプチド(2)を合成し、そのボウル型構造を調べた。



(2) 2-(アミノフェノキシ)アルカン酸からなる環状三量体のボウル型構造

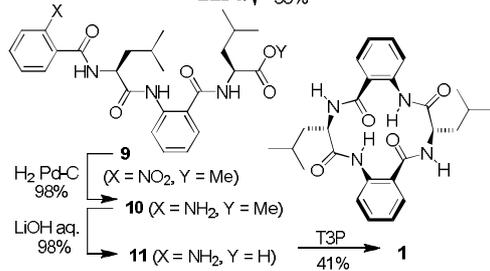
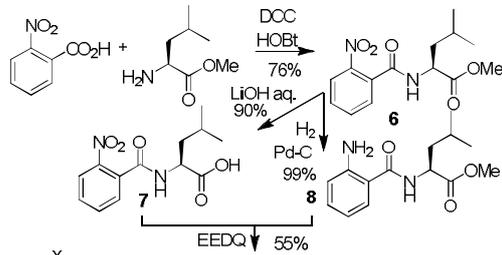
下図に示す 2-(アミノフェノキシ)プロピオン酸の環状三量体(3)および(4)を合成し、そのボウル型構造を調べる。さらに 3 のベンゼン環にアミド基を導入したトリペプチド 5, ボウル構造の会合により分子カプセルの形成について調べた。



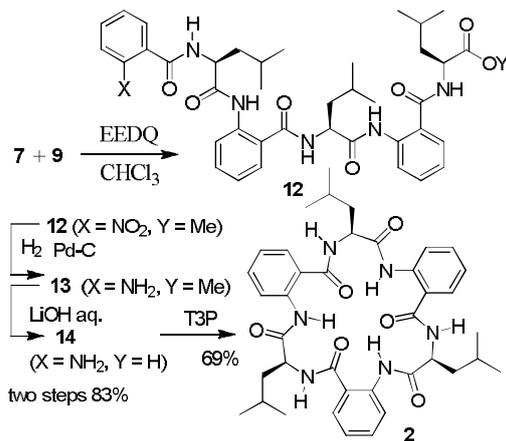
4. 研究成果

(1) アントラニル酸とアミノ酸からなる環状四量体と六量体の合成とボウル型構造

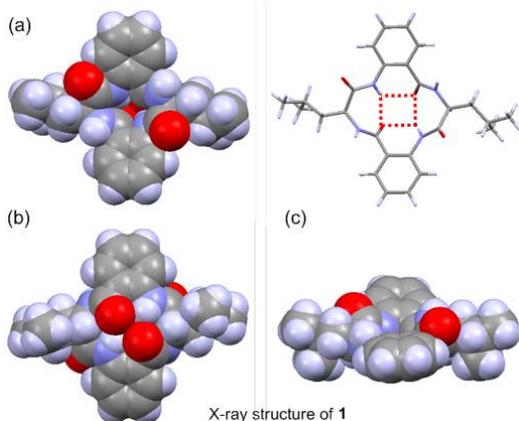
ロイシンとアントラニル酸と交互の縮合した環状四量体ペプチドを合成した(下図)。



さらに同様に環状六量体を合成した(下図)。



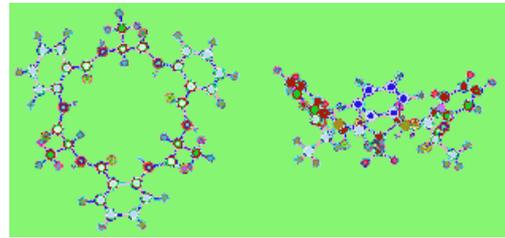
得られた環状四量体 **1** の単結晶 X 線構造解析を行うことができた(下図)。



浅いボウル型をもち、中央に分歧状水素結合と三中心水素結合を組み合わせた特異な環状水素結合ネットワークが確認されたが、アミド水素の重水素交換が容易に進行する

ことが NMR 実験から確認でき、弱い水素結合であると確認できた。これらの結果を学術論文として公表した(論文リスト①)

一方、環状六量体については、単結晶 X 線構造解析できる結晶が得られなかったことから、MMFF94s を用いた分子力場計算(MacroModel を使用)から最安定構造としてのボウル型構造が示された(下図)。



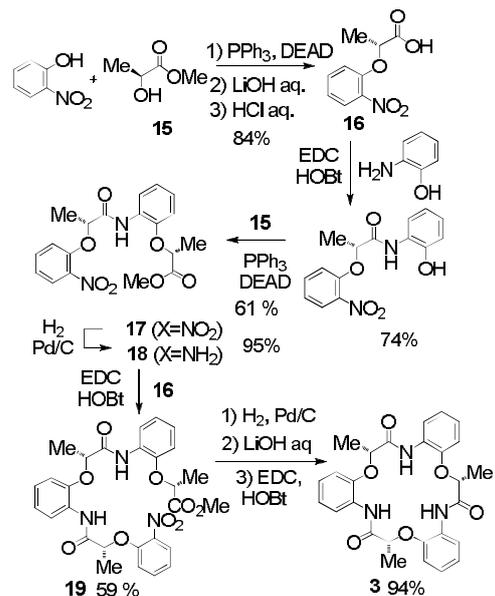
3 つ側鎖を 2 つに減らすと CD スペクトルが弱くなり、安定なキラルボウル型構造の維持には、側鎖が重要であることが分かった。これらの結果を学術論文として公表した(論文リスト③)。

これらの合成では、縮合反応時のロイシンのラセミ化が問題であったが、縮合試薬を検討して EEDQ にすることで問題を解決でき、光学活性な環状テトラおよびヘキサペプチドの合成法を確立した。

以上のようにボウル型構造と特性を明らかにした。今後、カプセル構造構築のため、これらのボウル型構造のリムとなるベンゼン環のニトロ化の検討を行ったがニトロ基の効率良い導入には至らなかった。今後さらに、検討が必要である。

(2) 2-アミノフェノキシ酢酸の環状三量体の合成とボウル構造

2-(2-アミノフェノキシ)プロピオン酸の環状トリペプチド **3** を合成し、そのボウル構造の特性を解明した。

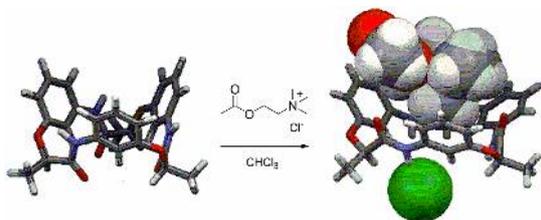


特に、環状トリペプチド **3** の溶液状態では水素結合によるフォールディングと側鎖の立体的効果から C_3 対称のボウル型構造を形成する。また、結晶状態では、アミド結合のひとつが反転して、四中心水素結合でボウル型構造を形成し、その内部にゲスト分子としてクロロホルムを包接することを明らかにした（下図）。これらの成果を学術論文に発表した（論文リスト⑤）。



さらに、ボウル型トリペプチド **3** の構造異性体として 2-(3-アミノフェノキシ)プロパン酸の環状三量体 **4** を同様に合成した。

このボウル構造 **4** は、第四級アンモニウム塩であるアセチルコリンをクロロホルム中、会合定数 $K=1998$ で包接することを見出した（下図）。包接結晶の単結晶 X 線構造解析から、カチオン- π 相互作用と対アニオンとアミド水素の間に水素結合が確認できた。神経伝達物質であるカチオン性のセチルコリンは、生体内の結合サイトにおいてアミノ酸側鎖の芳香族基との間にカチオン- π 相互作用が働いており、このボウル型ペプチドはそのモデル構造を考えることができる。



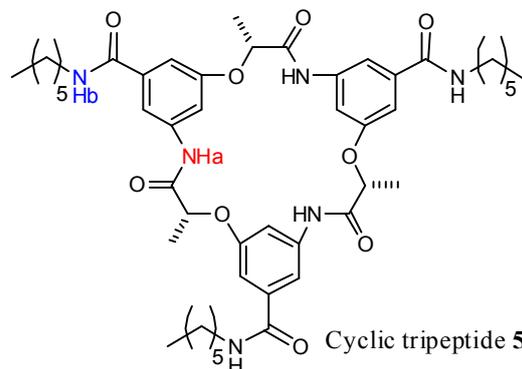
この環状三量体はキラルなボウル型化合物であり、ラセミ体の第四級アンモニウムの立体選択的会合も確認できた。ラセミ体の第四級アンモニウム塩と錯形成すると、ジアステレオマーの関係になるために、NMR では異なる化学シフトを与えた。第四級アンモニウム塩は水素結合できる水素がなくキラルなクラウンエーテルでは捕捉できず有効なキラルシフト剤がないのが現状である。今後、第四級アンモニウム塩の不斉認識能に対して、適用できるゲスト化合物への検討を行う必要がある。

(3) 2-(3-アミノフェノキシ)酢酸の環状三量体のボウル構造の会合によるカプセル合成

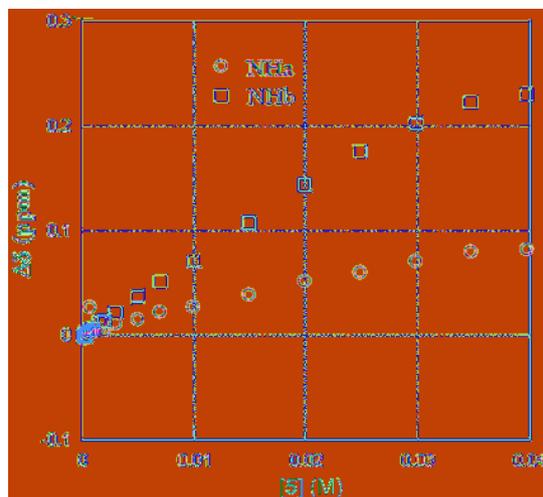
ホスト **4** の合成法として 2-(3-アミノフェノキシ)アルカン酸からの直接 1 段階縮合法で環状三量体を効率よく得る条件を検討し、縮

合剤 T3P で環化させることにより、環状トリペプチドおよび環状テトラペプチドがそれぞれ 31% および 17% で得られた。

Rickards らの方法 (Aust. J. Chem. 1981, 34, 1319) により、メチル 3-ヒドロシ-5-ニトロ安息香酸エステルを合成し、2-(3-アミノ-5-(メトキシカルボニル)フェノキシ)プロピオン酸を用いる、同様の 1 段階合成により環状トリペプチドおよび環状テトラペプチドが 26% および 14% で得た。これによりコンテナ化に必要なボウルのリム部分へのエステル官能基の導入した環状三量体の合成も可能になった。エステル官能基をけん化しカルボン酸とし、ヘキシルアミンと縮合させることでリム部分にアミド基を持つ環状三量体 **5** へ変換した（下図）。



アミド基を持つ環状三量体 **5** の ^1H NMR スペクトルではリム部に導入したアミドの化学シフトが濃度によって変化した。このことから分子会合が起こっていると考えられる。



以上のように、ペプチドミメティックな C_3 対称性キラルボウル化合物群を合成することができた。さらにボウルのリム部に会合能のあるアミド基を導入することで分子コンテナ構築を示唆する結果を得ることができた。今後、この会合体の構造や分子コンテナとしての包接能についての詳細な研究継続が必要であると考える。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

- ① Motohiro Akazome, Masashi Enzu, Koji Takagi, Shoji Matsumoto, Synthesis and C_2 -Symmetric Structure of a Cyclotetrapeptide Composed of Anthranilic Acid and Leucine, Chirality, 査読有, 23, 568-573 (2011).
- ② Motohiro Akazome, Shusaku Toma, Tatsunori Horiguchi, Ken Megumi, Shoji Matsumoto, Inclusion of aliphatic alcohols in pockets of (S)-threonyl-(S)-phenylglycine using grinding method, 査読有, 67, 2844-2848 (2011).
- ③ Motohiro Akazome, Masashi Enzu, Yohei Goto, Shoji Matsumoto, Synthesis of a Chiral C_3 -Symmetric Bowl-Shaped Cyclohexapeptide Composed of Anthranilic Acid and Leucine, Heterocycles, 査読有, 82, 1645-1656 (2011).
- ④ Motohiro Akazome, Ai Doba, Shoji Matsumoto, Katsuyuki Ogura, Predominant (S)-Enantioselective Inclusion of Aryl Methyl Sulfoxides by (S)-Isoleucyl-(S)-phenylglycines, The Journal of Organic Chemistry, 査読有, 65, 660-665 (2010).
- ⑤ Motohiro Akazome, Junpei Sukegawa, Yohei Goto, Shoji Matsumoto, A cyclic trimer of 2-(2-aminophenoxy) propionic acid with a bowl-shaped structure, Tetrahedron Letters, 50, 査読有, 5382-5385 (2009).

[学会発表] (計 6 件)

- ① Motohiro Akazome, Cyclic Tripeptides of 2-(Aminophenoxy)alkanoic Acids: the Bowl-shaped Structure and Molecular Recognition, Bangkok, (Thailand), 2011年 9月 8日
- ② Motohiro Akazome, Norihiro Hamada, Koji Takagi, Shoji Matsumoto, Binding of Quaternary Ammonium Compounds to Bowl-shaped Tripeptides of 2-(3-Aminophenoxy)alkanoic acids, 23rd International Symposium on Chiral Discrimination (Chirality 2011), University of Liverpool (UK), 2011年 7月 11日
- ③ Motohiro Akazome, Masashi Enzu, Yohei

Goto, Shoji Matsumoto, Chiral Bowl-Shaped Structure of Cyclic Peptides Composed of Anthranilic Acid and Leucine, 22nd International Symposium on Chirality, 札幌コンベンションセンター(北海道), 2010年 7月 14日

④ 赤染元浩, ジペプチドやアミノ酸塩の有機結晶を用いる包接現象と不斉認識, 日本化学会第4回関東支部大会, 2010年 8月 30日

⑤ 赤染元浩, 遠津正, 松本祥治, アントラニル酸とロイシンからなる環状ペプチドの合成と構造, 日本化学会第90春季年会, 近畿大学(東大阪市), 2010年 3月 27日

⑥ 赤染元浩, 後藤洋平, 助川順平, 松本祥治, 2-(2-アミノフェノキシ)アルカン酸からなるオリゴペプチドのヘリックスならびにボウル構造, 第5回ホスト-ゲスト化学シンポジウム, 宇都宮大学(宇都宮市), 2009年 5月 30日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

赤染 元浩 (AKAZOME MOTOHIRO)
千葉大学・大学院工学研究科・准教授
研究者番号: 10261934

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし